

研究报告

猪源肠外致病性大肠杆菌耐药性分析及耐药基因和 I 类整合子检测

孙起荣¹, 李亮¹, 占松鹤², 邢刚³, 刘雪兰¹, 李郁^{*1}

1 安徽农业大学动物科技学院, 安徽 合肥 230036

2 安徽动物疫病预防与控制中心, 安徽 合肥 230091

3 安徽马鞍山史记动物健康管理有限公司, 安徽 马鞍山 238251

孙起荣, 李亮, 占松鹤, 邢刚, 刘雪兰, 李郁. 猪源肠外致病性大肠杆菌耐药性分析及耐药基因和 I 类整合子检测[J]. 微生物学通报, 2022, 49(1): 229-241

Sun Qirong, Li Liang, Zhan Songhe, Xing Gang, Liu Xuelan, Li Yu. Analysis of drug resistance and detection of drug resistance gene and class I integron in porcine ExPEC[J]. Microbiology China, 2022, 49(1): 229-241

摘要:【背景】由于抗生素的长期大量且不合理使用, 猪源肠外致病性大肠杆菌(extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC)多重耐药性日趋严重。【目的】探究猪源 ExPEC 的耐药性及其与耐药基因和 I 类整合子的相关性。【方法】采用微量肉汤稀释法测定 54 株猪源 ExPEC 对 22 种抗生素的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)和最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC); 依据药敏试验结果确定相关耐药基因, 采用 PCR 方法检测染色体 DNA 和质粒 DNA 上的耐药基因及 I 类整合子分布情况。【结果】54 株猪源 ExPEC 对青霉素、氟苯尼考、氨苄西林、阿莫西林高度耐药, 其中 52 株对甲氧苄氨嘧啶、复方新诺明高度耐药, 它们的 MIC 值均大于 256 $\mu\text{g/mL}$, 无 MBC 值; 对头孢唑林、四环素、头孢氨苄、大观霉素、链霉素的 MIC 值在 1–256 $\mu\text{g/mL}$ 之间, MBC 值分别为 8、16、32、64、128、256 $\mu\text{g/mL}$, 均可耐受 11 种以上抗生素, 其中以耐受 17 种为主, 占比为 18.52%, 耐药谱有 47 种。确定了 7 类相关耐药基因 20 种, 染色体 DNA 除 *aph(3')-IIa* 基因外的 19 种耐药基因均可检出, 以 *aadA1* 和 *tetA* 检出率最高, 所有菌株均携带 5 种以上耐药基因; 质粒 DNA 除 *tetB*、*tetC*、*SHV*、*qnrA* 基因外的 16 种耐药基因均可检出, 以

基金项目: 国家星火计划重点项目(2014GA710002); 安徽省自然科学基金(1508085MC44); 安徽省重点研究与开发计划面上攻关项目(201904a06020013); 安徽省长三角联合科技攻关项目(1101c0603065); 安徽省生猪产业体系基金(皖农科[2016] 84 号)

Supported by: Key Project of National Spark Program of China (2014GA710002); Natural Science Foundation of Anhui Province (1508085MC44); Key Research and Development Project of Anhui Province (201904a06020013); Science and Technology Project of Yangtze River Delta in Anhui Province (1101c0603065); Pig Industry System Fund of Anhui Province ([2016] 84)

*Corresponding author: E-mail: liyouer@163.com

Received: 2021-05-27; Accepted: 2021-06-30; Published online: 2021-09-28

floR 和 *parC* 检出率最高,所有菌株均携带 5 种以上耐药基因。I 类整合子在染色体 DNA 和质粒 DNA 中阳性检出率分别为 96.3%和 98.15%, 阳性菌株均为多重耐药。【结论】猪源 ExPEC 多重耐药性严重,耐药谱复杂多样,耐药基因与 I 类整合子在染色体 DNA 和质粒 DNA 中分布率极高,耐药性的产生与耐药基因的存在具有一定相关性,而 I 类整合子的存在又增加了耐药基因水平转移的风险。

关键词: 猪; 肠外致病性大肠杆菌; 耐药性; 耐药基因; I 类整合子

Analysis of drug resistance and detection of drug resistance gene and class I integron in porcine ExPEC

SUN Qirong¹, LI Liang¹, ZHAN Songhe², XING Gang³, LIU Xuelan¹, LI Yu^{*1}

1 College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China

2 Anhui Province Animal Disease Prevention and Control Center, Hefei 230091, Anhui, China

3 Anhui Maanshan Shiji Animal Health Management Limited Company, Maanshan 238251, Anhui, China

Abstract: [Background] The long-term massive and irrational use of antibiotics has led to increasing multi-drug resistance of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) isolated from pigs. [Objective] To investigate the drug resistance of ExPEC isolated from pigs and its correlation with drug resistance genes and class I integrons. [Methods] The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of 54 strains of ExPEC isolated from pigs against 22 antimicrobial drugs were determined by micro-broth dilution method. The drug resistance genes were identified based on the results of drug sensitivity tests, and the distribution of drug resistance genes and class I integrons on chromosomal DNA and plasmid DNA were detected by PCR. [Results] The 54 strains of porcine ExPEC were highly resistant to penicillin, florfenicol, ampicillin and amoxicillin, of which 52 strains of porcine ExPEC were highly resistant to trimethoprim and cotrimoxazole, and their MIC values were greater than 256 µg/mL, no MBC value; and MICs to cefazolin, tetracycline, cefadroxil, daiconin, and streptomycin were 1–256 µg/mL with MBC values of 8, 16, 32, 64, 128, and 256 µg/mL, all tolerating more than 11 antimicrobial drugs, of which 17 were predominantly tolerated, accounting for 18.52%, with 47 drug resistance spectrums. We identified 20 drug resistance genes in 7 major categories, 19 drug resistance genes in chromosomal DNA except *aph(3')-IIa* gene were detected, with the highest detection rate of *aadA1* and *tetA*, and all strains carried more than 5 drug resistance genes; 16 drug resistance genes in plasmid DNA except *tetB*, *tetC*, *SHV* and *qnrA* genes were detected, with the highest detection rate of *floR* and *parC*, and all strains carried more than 5 drug resistance genes. The positive detection rates of class I integrons in chromosomal DNA and plasmid DNA were 96.3% and 98.15%, respectively, and all positive strains were multi-drug resistant strains. [Conclusion] ExPEC isolated from pigs has serious multi-drug resistance, the drug resistance profiles are complex and diverse, a very high distribution of resistance genes and class I integrons in chromosomal DNA and plasmid DNA, and a correlation between the development of resistance and the presence of resistance genes, which in turn increases the risk of horizontal transfer of resistance genes.

Keywords: pigs; enteropathogenic *Escherichia coli*; drug resistance; drug resistance gene; class I integron

肠外致病性大肠杆菌(extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC)是一组不同种类的 *E. coli*, 不仅可正常定殖于动物和人的肠道, 而且能侵入血管引起菌血症, 并诱发败血症或局部肠道外感染, 如脑膜炎、关节炎、肺炎、心内膜炎等^[1]。近年来, 我国猪源 ExPEC 在临床上的检出率呈现逐年升高的态势, 危害日趋严重^[2-3]。目前防治大肠杆菌病/感染的主要手段是依靠抗生素, 但长期不合理使用抗生素导致猪源 ExPEC 多重耐药菌株日益增多, 甚至出现了超级细菌, 严重影响肠外致病性大肠杆菌感染的防治效果^[4]。研究表明, ExPEC 耐药性的产生与多种因素有关, 其中与整合子的关系最为密切, 而耐药基因在其帮助下能够快速在不同细菌与物种之间传递和转移耐药性^[5]。

为了解和掌握猪源 ExPEC 的耐药性及其与耐药基因、整合子之间的相互关系, 本试验以临床分离的 54 株猪源 ExPEC 为研究对象, 采用微量肉汤稀释法测定菌株对 22 种抗生素的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)和最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC), 依据试验结果确定相关耐药基因, 采用 PCR 技术检测染色体 DNA 和质粒 DNA 上耐药基因及 I 类整合子分布情况, 以期为临床上有效防治猪源 ExPEC 感染提供科研数据及技术支持。

1 材料与方法

1.1 菌株

54 株猪源 ExPEC 源自某集团在安徽、江苏、山东、河北、广西地区家庭农场的病猪, 由安徽农业大学动物传染病实验室保存, 相关背景信息见表 1。

大肠杆菌标准菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌标准菌 CMCC26003 均由安徽农业大学动

物传染病实验室保存。

1.2 主要试剂和仪器及培养基

2×Taq PCR MasterMix、DL2000 DNA Marker 和 GelRed 核酸染色液, 南京擎科生物科技有限公司; 质粒 DNA 小量纯化试剂盒, 杭州博日有限公司; 青霉素(PEN)、阿莫西林(AMX)、氨苄西林(AMP)、头孢唑林(CFZ)、头孢氨苄(CA)、头孢曲松(CRO)、链霉素(STR)、庆大霉素(GEN)、卡那霉素(RAN)、丁胺卡那(AMK)、新霉素(NEO)、大观霉素(SPT)、四环素(TE)、多西环素(DX)、氟苯尼考(FFC)、甲氧苄胺嘧啶(TMP)、复方新诺明(SXT)、氧氟沙星(OFL)、恩诺沙星(ENR)、环丙沙星(CIP)、多黏菌素 B (PB)、多黏菌素 E (CT), 绍兴天恒生物科技有限公司。

凝胶电泳仪, 北京市六一生物科技有限公司; 恒温振荡培养箱, 上海实验仪器厂有限公司; 高速冷冻离心机, 安徽中科中佳公司; PCR 仪, 合肥睿捷生物科技有限公司。

水解酪蛋白胨肉汤培养基, 合肥睿捷生物科技有限公司; 麦康凯琼脂培养基、胰酪大豆胨琼脂培养基、水解酪蛋白琼脂培养基、纯化琼脂粉, 杭州微生物试剂厂。

1.3 猪源 ExPEC 药敏试验(微量肉汤稀释法)

按照美国临床实验室标准化研究所推荐的微量肉汤稀释法对 54 株猪源 ExPEC 进行 MIC 和 MBC 测定, 并依据各种药物的药敏折点判断结果。

1.4 猪源 ExPEC 耐药基因检测

1.4.1 染色体 DNA 及质粒 DNA 的提取

染色体 DNA 采用煮沸法^[6]提取; 质粒 DNA 按照质粒提取试剂盒说明书进行。

1.4.2 PCR 扩增耐药基因

参考文献[7-8]合成 7 类 20 个耐药基因的 PCR 检测引物, 包括: 四环素类耐药基因 *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetM*; β -内酰胺类耐药基因 *TEM*、

OXA、*SHV*、*CTX-M*；磺胺类耐药基因 *sul1*、*sul2*；氟苯尼考类耐药基因 *floR*；粘菌素类耐药基因 *mcr-1*；喹诺酮类耐药基因 *parC*、*qnrA*、*qnrB*、*qnrC*；氨基糖苷类耐药基因 *aadA1*、*aadB*、*aac(3')-IIa*、*aph(3')-IIa*。分别以基因组 DNA 和

质粒 DNA 为模板进行 PCR 反应。引物序列及 PCR 产物片段大小见表 2，引物由通用生物系统(安徽)有限公司合成。反应体系见表 3，反应条件见表 4。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳进行检测，凝胶成像系统观察并记录结果。

表 1 54 株猪源 ExPEC 背景信息表

Table 1 Background information of 54 strains of swine derived ExPEC

序号 No.	菌株编号 Strains No.	分离时间 Isolation time	分离地区 Location	序号 No.	菌株编号 Strains No.	分离时间 Isolation time	分离地区 Location
1	AH shou18-1	2018.03	安徽 Anhui	28	JSxu18-3	2018.05	江苏 Jiangsu
2	AH shou18-2	2018.03	安徽 Anhui	29	JSda18-8	2018.05	江苏 Jiangsu
3	AH shou18-4	2018.03	安徽 Anhui	30	JSda18-9	2018.05	江苏 Jiangsu
4	AH shou18-5	2018.03	安徽 Anhui	31	JSda18-10	2018.05	江苏 Jiangsu
5	AH shou18-6	2018.03	安徽 Anhui	32	JSda18-12	2018.05	江苏 Jiangsu
6	AH shou18-7	2018.03	安徽 Anhui	33	SDjie18-3	2018.07	山东 Shandong
7	AH shou18-8	2018.03	安徽 Anhui	34	SDjie18-10	2018.07	山东 Shandong
8	AH shou18-9	2018.03	安徽 Anhui	35	SDjie18-11	2018.07	山东 Shandong
9	AH shou18-10	2018.03	安徽 Anhui	36	SDlin18-7	2018.07	山东 Shandong
10	AHhuai18-2	2018.03	安徽 Anhui	37	SDlin18-10	2018.07	山东 Shandong
11	AHhuai18-12	2018.03	安徽 Anhui	38	SDlin18-12	2018.08	山东 Shandong
12	AHsui18-1	2018.03	安徽 Anhui	39	SDlan18-2	2018.08	山东 Shandong
13	AHlin18-3	2018.03	安徽 Anhui	40	HBgu18-8	2018.12	河北 Hebei
14	AHquan18-1	2018.03	安徽 Anhui	41	HByan18-2	2018.12	河北 Hebei
15	AHquan18-2	2018.03	安徽 Anhui	42	HByan18-3	2018.12	河北 Hebei
16	AHquan18-3	2018.03	安徽 Anhui	43	HByan18-4	2018.12	河北 Hebei
17	AHquan18-4	2018.03	安徽 Anhui	44	HByan18-5	2018.12	河北 Hebei
18	AHquan18-6	2018.03	安徽 Anhui	45	HByan18-8	2018.12	河北 Hebei
19	AHsi18-3	2018.03	安徽 Anhui	46	HBxian18-3	2018.12	河北 Hebei
20	AH li19-1	2018.03	安徽 Anhui	47	HBxian18-4	2018.12	河北 Hebei
21	AH li19-2	2018.03	安徽 Anhui	48	HBcang18-4	2018.12	河北 Hebei
22	AH li19-3	2018.03	安徽 Anhui	49	GXxin19-8	2019.03	广西 Guangxi
23	AH li19-4	2018.03	安徽 Anhui	50	GXheng19-6	2019.03	广西 Guangxi
24	AH li19-5	2018.03	安徽 Anhui	51	GXgui19-4	2019.03	广西 Guangxi
25	AH li19-6	2018.03	安徽 Anhui	52	GXgui19-5	2019.03	广西 Guangxi
26	JSxu18-1	2018.05	江苏 Jiangsu	53	GXqin19-4	2019.03	广西 Guangxi
27	JSxu18-2	2018.05	江苏 Jiangsu	54	GXqin19-8	2019.03	广西 Guangxi

表 2 猪源 ExPEC 耐药基因引物信息表

Table 2 Primer information of drug resistance genes of porcine ExPEC

抗生素种类	耐药基因	引物序列	产物大小
Types of antibiotics	Drug resistance genes	Primers sequence (5'→3')	Products size (bp)
四环素类 Tetracyclines	<i>tetA</i>	F: GCCTCCTGCGCGATCTGG R: CGAAGCAAGCAGGACCATG	848
	<i>tetB</i>	F: CAGTGCTGTTGTTGTCATTAA R: GCTTGGAATACTGAGTGTA	571
	<i>tetC</i>	F: ACTTGAGGCCACTATCGAC R: CTACAATCCATGCCAACCC	427
	<i>tetM</i>	F: GTGGACAAAGGTACAACGAG R: CGGTAAAGTTCGTCACACAC	406
β-内酰胺类 β-lactams	<i>TEM</i>	F: CAGAAACGCTGGTGAAAG R: TTACCAATGGTTAATCAGTGAG	788
	<i>CTX-M</i>	F: CGCTTTGCGATGTGCAG R: ACCGCGATATCGTTGGT	550
	<i>OXA</i>	F: TTTCTGTTGTTTGGGTTTC R: TTTCTTGGCTTTTATGCTTG	447
	<i>SHV</i>	F: AGCCGCTTGAGCAAATTAAAC R: ATCCCGCAGCTAAATCACCAC	713
氟苯尼考 Florfenicol	<i>floR</i>	F: GAACACGACGCCCCGCTAT R: TTCCGCTTGGCCTATGAG	601
喹诺酮类 Quinolones	<i>parC</i>	F: CTGGGTAAATACCATCCGCAC R: CGGTTTCATCTTCATTACGAA	987
	<i>qnrA</i>	F: AGAGGATTTCTCACGCCAGG R: TGCCAGGCACAGATCTTGAC	580
	<i>qnrB</i>	F: GGCATCGAAATTCGCCACTG R: TTTGCCGCCCAGTCGAA	264
	<i>qnrC</i>	F: CGGCGTGGGCTACCTGAACG R: GCCGATCGCGTGAAGTTCCG	447
磺胺类 Sulfonamides	<i>sul1</i>	F: CGGCGTGGGCTACCTGAACG R: GCCGATCGCGTGAAGTTCCG	433
	<i>sul2</i>	F: CTTGTTTCGTCCGACACAGA R: GAAGCGCAGCCGCAATTCAT	435
氨基糖苷类 Aminoglycosides	<i>aadA1</i>	F: GCAGCGCAATGACATTCTTG R: ATCCTCGGCGCGATTTTG	282
	<i>aadB</i>	F: GAGGAGTTGGACTATGGATT R: CTTTCATCGGCATAGTAAAA	208
	<i>aac(3')-IIa</i>	F: GGCGACTTCACCGTTTCT R: GGACCGATCACCTACGAG	412
	<i>aph(3')-IIa</i>	F: TGACTGGGCACAACAGACT R: TCAAGAAGGCGATAGAAGGC	717
粘菌素类 Colistins	<i>mcr-1</i>	F: CGGTCAGTCCGTTTGTTT R: CTTGGTCGGTCTGTAGGG	309

表3 PCR反应体系

Table 3 The PCR reaction system

耐药基因 Drug resistance genes	2×Taq PCR master mix (μL)	上游引物 Upstream primer (10 μmol/L) (μL)	下游引物 Downstream primer (10 μmol/L) (μL)	ddH ₂ O (μL)	DNA 模板 DNA template (μL)	总体积 Total volume (μL)
<i>tetA</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25
<i>tetB</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25
<i>tetC</i>	12.5	0.5	0.5	7.5	4.0	25
<i>tetM</i>	10.0	0.5	0.5	7.0	2.0	20
<i>TEM</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25
<i>CTX-M</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25
<i>OXA</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25
<i>SHV</i>	10.0	0.5	0.5	7.0	2.0	20
<i>floR</i>	12.5	0.5	0.5	7.5	4.0	25
<i>parC</i>	12.5	1.0	1.0	10.0	0.5	25
<i>qnrA</i>	12.5	1.0	1.0	8.5	2.0	25
<i>qnrB</i>	12.5	1.0	1.0	8.5	2.0	25
<i>qnrC</i>	12.5	1.0	1.0	8.5	2.0	25
<i>sul1</i>	10.0	0.5	0.5	8.0	1.0	20
<i>sul2</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25
<i>aadA1</i>	12.5	0.5	0.5	10.5	1.0	25
<i>aadB</i>	12.5	0.5	0.5	9.5	2.0	25
<i>aac(3')-IIa</i>	12.5	0.5	0.5	7.5	4.0	25
<i>aph(3')-IIa</i>	12.5	1.0	1.0	8.5	2.0	25
<i>mcr-1</i>	12.5	1.0	1.0	9.5	1.0	25

表4 PCR反应条件

Table 4 The PCR reaction conditions

耐药基因 Drug resistance genes	预变性 Pre-denaturation (°C/s)	变性 Denaturation (°C/s)	退火 Annealing (°C/s)	延伸 Extension (°C/s)	循环数 Number of cycles	终延伸 Termination extension (°C/s)	保存 Preservation (°C)
<i>tetA</i>	94/300	94/30	58.0/30	72/45	34	72/420	4
<i>tetB</i>	94/300	94/30	58.0/30	72/60	25	72/300	4
<i>tetC</i>	95/300	94/30	50.0/30	72/45	30	72/600	4
<i>tetM</i>	94/180	94/30	60.9/30	72/60	34	72/300	4
<i>TEM</i>	94/300	94/30	54.0/30	72/60	25	72/300	4
<i>CTX-M</i>	94/300	94/30	54.0/30	72/60	34	72/420	4
<i>OXA</i>	94/300	94/30	53.0/30	72/60	25	72/300	4
<i>SHV</i>	94/300	94/40	56.0/40	72/45	30	72/300	4
<i>floR</i>	95/300	94/30	52.0/30	72/45	30	72/600	4
<i>parC</i>	95/300	94/30	53.0/45	72/60	30	72/300	4
<i>qnrA</i>	94/180	94/30	55.0/30	72/40	30	72/420	4
<i>qnrB</i>	94/180	94/30	55.0/30	72/40	30	72/420	4
<i>qnrC</i>	94/180	94/30	55.0/30	72/40	30	72/420	4
<i>sul1</i>	95/180	95/20	55.0/30	72/36	35	72/420	4
<i>sul2</i>	94/300	94/30	60.0/30	72/60	25	72/300	4
<i>aadA1</i>	94/600	94/60	60.0/60	72/60	30	72/300	4
<i>aadB</i>	95/300	94/60	53.0/60	72/60	30	72/300	4
<i>aac(3')-IIa</i>	95/300	94/30	54.0/30	72/45	30	72/300	4
<i>aph(3')-IIa</i>	94/600	94/50	54.0/45	72/50	32	72/600	4
<i>mcr-1</i>	98/180	98/30	55.0/30	72/60	30	72/600	4

1.5 猪源 ExPEC I 类整合子检测

参考文献[9]合成 I 类整合酶基因(*intI1*)的 PCR 检测引物, 引物 F (5'-GGTCAAGGATCTG GATTTCG-3')和 R (5'-CATGCGTGTAATCAT CGTC-3')由通用生物系统(安徽)有限公司合成。目的片段长度为 483 bp, 分别以染色体 DNA 和质粒 DNA 为模板进行 PCR 反应。PCR 反应体系(20 μ L): $2\times$ Taq PCR MasterMix 10 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L, DNA 模板 2 μ L, ddH₂O 7 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 40 s, 56 $^{\circ}$ C 40 s, 72 $^{\circ}$ C 50 s, 循环 32 次; 72 $^{\circ}$ C 8 min。PCR 反应产物用 1%琼脂糖凝胶电泳进行检测, 用凝胶成像系统观察并记录结果。

2 结果与分析

2.1 猪源 ExPEC 药敏试验(微量肉汤稀释法)结果

54 株猪源 ExPEC 对 PEN、AMX、AMP 和 FFC 高度耐药, 其中 52 株对 TMP 和 SXT 高度耐药(MIC>256 μ g/mL, 无 MBC 值); 对 PB 敏感(MIC 值在 1–16 μ g/mL 之间, MBC 值分别为 2、4、8、16、32、64 μ g/mL); 对 CFZ、TE、CA、SPT、STR、RAN、GEN、CT、DOX、CRO、CIP、NEO 和 ENR 耐药(MIC 值在 0.25–256 μ g/mL 之间, MBC 值分别为 0.25、0.5、1、2、4、8、16、32、64、128、256 μ g/mL, 部分菌株 MIC>256 μ g/mL, 无 MBC 值), MIC 及 MBC 具体分布情况见表 5、表 6。54 株

表 5 54 株猪源 ExPEC 对 22 种抗生素的 MIC 值

Table 5 The MIC value of 54 strains of ExPEC to 22 antibiotics

抗生素 Antibiotics	菌株数与 MIC 值 The number of bacteria and MIC value (μ g/mL)										
	≤ 0.25	≤ 0.5	1	2	4	8	16	32	64	≥ 128	≥ 256
PEN											54
AMX											54
AMP											54
CFZ					2			1	3	1	47
CA						4	1	7	1	1	40
CRO	5		3	1		4	4	2	3	32	
STR					1	2	3	3	4	7	34
GEN	1	7			3	6	6	5	7	2	17
RAN			3	4	3	1		1		1	41
AMK					3	5	7	19			20
NEO	1	3	9			1	3	10	5	2	20
SPT						2	2	3	1	1	45
TE			1	1			1	8	14	12	17
DOX		1		1	5	12	13	18	3	1	
FFC								8			46
TMP										1	53
SXT									1	1	52
ENR	21	2	1	4	3	8	3	7	5		
CIP	8	2	5	10	6	5	5	6	6	1	
OFL	14	4	4	2	12	5	7	6			
PB	2		1	12	22	11	2			4	
CT	2				16	20	9	3	1	3	

表 6 54 株猪源 ExPEC 对 22 种抗生素的 MBC 值

Table 6 The MBC value of 54 strains of ExPEC to 22 antibiotics

抗生素	菌株数与 MBC 值 The number of bacteria and MBC value (μg/mL)											
Antibiotics	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	Number
PEN												54
AMX												54
AMP												54
CFZ						1	1		1	1	3	47
CA								2	2	6	2	42
CRO	3	1		2	2	1	3	3	3	2		33
STR						1	1	3	2	3	5	39
GEN	1		5	1	1	3	5	2	1	9	3	23
RAN					1	4	2	3		2	1	41
AMK							8	3	10	12	1	20
NEO				3	6	3	1	1	3	6		31
SPT							1	3			2	48
TE						2		5	1	10	12	24
DOX						1	6	9	13	16	4	5
FFC												54
TMP											1	53
SXT										1	1	52
ENR	10	4	2	1	2	4	8	3	3	4		13
CIP	2	3	2	1	7	2	7	7	2	5		16
OFL	3	3	6	4	4	7	5	3	6	11		2
PB	1	1		1	11	16	13	6	2			3
CT	1			1		14	21	9	4	2		2

猪源 ExPEC 可耐受 11 种以上抗生素,均为多重耐药,其中以耐受 17 种抗生素为主,占比为 18.52% (10/54 株),有 3 株(5.56%)分离株耐受 22 种抗生素,即耐受测试的所有抗生素。耐药谱有 47 种,其中以 PEN+AMX+AMP+CFZ+CA+CRO+STR+GEN+RAN+AMK+NEO+SPT+TE+DOX+FFC+TMP+SXT+OFL+ENR+CIP+PB+CT 和 PEN+AMX+AMP+CFZ+CA+CRO+STR+GEN+RAN+AMK+NEO+SPT+TE+DOX+FFC+TMP+SXT 占比最大,占比均为 6.38% (3/47)。

2.2 猪源 ExPEC 耐药基因检测结果

2.2.1 染色体 DNA 耐药基因检测结果

20 个耐药基因在染色体 DNA 上除 *aph(3')-IIa* 基因未检测到外,其余 19 个基因均

有检出,各基因检出率从高到低依次为 *aadA1* (87%, 47/54)、*tetA* (87%, 47/54)、*parC* (83.3%, 45/54)、*sul2* (79.6%, 43/54)、*TEM* (77.8%, 42/54)、*floR* (72.2%, 39/54)、*CTX-M* (57.4%, 31/54)、*qnrC* (55.6%, 30/54)、*sul1* (55.6%, 30/54)、*tetC* (53.7%, 29/54)、*aadB* (31.5%, 17/54)、*aac(3')-IIa* (31.5%, 17/54)、*SHV* (22.2%, 12/54)、*tetM* (20.4%, 11/54)、*qnrB* (16.7%, 9/54)、*tetB* (14.8%, 8/54)、*OXA* (5.6%, 3/54)、*mcr-1* (5.6%, 3/54)和 *qnrA* (3.7%, 2/54),其中 *aadA1*、*tetA*、*parC*、*sul2*、*TEM*、*floR* 基因出现的频率超过 70%。所有菌株均携带 5 种以上耐药基因,最高可携带 13 种,其中以携带 10 种为主,占比为 24.08% (13/54 株)。

2.2.2 质粒 DNA 耐药基因检测结果

20 个耐药基因在质粒 DNA 上除 *tetB*、*tetC*、*SHV* 和 *qnrA* 基因未检测到外, 其余 16 个基因均有检出, 各基因检出率从高到低依次为 *floR* (98.2%, 53/54)、*parC* (98.2%, 53/54)、*TEM* (87%, 47/54)、*aadA1* (87%, 47/54)、*tetA* (83.3%, 45/54)、*sul2* (77.8%, 42/54)、*qnrC* (70.4%, 38/54)、*aadB* (68.5%, 37/54)、*CTX-M* (66.7%, 36/54)、*tetM* (50%, 27/54)、*sul1* (33.3%, 18/54)、*aac(3')-IIa* (31.5%, 17/54)、*mcr-1* (31.5%, 17/54)、*qnrB* (18.5%, 10/54)、*OXA* (3.7%, 2/54) 和 *aph(3')-IIa* (3.7%, 2/54), 其中 *aadA1*、*tetA*、*parC*、*sul2*、*TEM*、*floR* 和 *qnrC* 基因出现的频率超过 70%。

所有菌株均携带 5 种以上耐药基因, 最高可携带 13 种, 其中以携带 10 种为主, 占比为 27.78% (15/54 株)。

2.3 猪源 ExPEC I 类整合子检测结果

54 株猪源 ExPEC I 类整合酶基因检测为阳性的菌株在染色体 DNA 中有 52 株, 检出率为 96.30%; 在质粒 DNA 中有 53 株, 检出率为 98.15%。

2.4 猪源 ExPEC 耐药性与耐药基因的相关性

由表 7 可知, 54 株猪源 ExPEC 耐药基因 *tetA*、*TEM*、*CTX-M*、*tetC*、*tetM*、*sul1*、*sul2*、*qnrC*、*parC*、*aadA1*、*aadB* 和 *floR* 的检出与菌株的耐药表型呈极显著相关性 ($P < 0.01$); 耐药

表 7 54 株猪源 ExPEC 耐药性与耐药基因的相关性分析

Table 7 Analysis of the correlation between drug resistance and drug resistance genes of 54 strains of porcine ExPEC

抗生素种类 Types of antibiotics	耐药菌株数 Number of drug resistant bacteria	耐药基因 Drug resistance gene	耐药菌株染色体 DNA 阳性率 Chromosome DNA positive rate of drug resistance strains (%)	耐药菌株质粒 DNA 阳性率 Plasmid DNA positive rate of drug resistance strains (%)
β-内酰胺类 β-lactams	54	<i>TEM</i>	42(77.78)a	47(87.04)a
		<i>SHV</i>	12(22.22)a	0(0)b
		<i>OXA</i>	3(5.56)a	2(3.70)b
		<i>CTX-M</i>	31(57.41)a	36(66.67)a
四环素类 Tetracyclines	52	<i>tetA</i>	47(87.04)a	45(83.33)a
		<i>tetB</i>	8(14.82)a	0(0)b
		<i>tetC</i>	29(53.70)a	0(0)a
		<i>tetM</i>	11(20.37)a	27(50.00)a
氟苯尼考类 Florfenicol	54	<i>floR</i>	39(72.22)a	53(98.15)a
氨基糖苷类 Aminoglycosides	53	<i>aadA1</i>	47(87.04)a	47(87.04)a
		<i>aadB</i>	17(31.48)a	37(68.52)a
		<i>aac(3')-IIa</i>	17(31.48)a	17(31.48)b
		<i>aph(3')-IIa</i>	0(0)a	2(3.70)b
磺胺类 Sulfonamides	54	<i>sul1</i>	30(55.56)a	18(33.33)a
		<i>sul2</i>	43(79.63)a	42(77.78)a
喹诺酮类 Quinolones	33	<i>parC</i>	45(83.33)a	53(98.15)a
		<i>qnrA</i>	2(3.70)a	0(0)b
		<i>qnrB</i>	9(16.67)a	10(18.52)b
		<i>qnrC</i>	30(55.56)a	38(70.37)a
粘菌素类 Colistins	36	<i>mcr-1</i>	3(5.56)a	17(31.48)b

注: 同行字母相同表明耐药表型与耐药基因呈极显著相关性 ($P < 0.01$), 同行字母不相同表明耐药表型与耐药基因相关性不显著 ($P > 0.05$)

Note: The same letters showed that the drug resistance phenotype was highly correlated with the drug resistance gene ($P < 0.01$), and the difference of the same letters showed no significant correlation ($P > 0.05$).

基因 *mcr-1*、*OXA*、*SHV*、*tetB*、*qnrA*、*qnrB*、*aac(3')-IIa* 和 *aph(3')-IIa* 与菌株耐药表型的相关性不显著($P>0.05$)。

2.5 猪源 ExPEC 耐药性与 I 类整合子的相关性

54 株猪源 ExPEC 均为多重耐药菌株,可耐受 11–22 种抗生素。其中 I 类整合酶 *intI1* 基因在染色体 DNA 和质粒 DNA 中均为阳性的菌株有 52 株,占比为 96.3%,耐受 11–22 种抗生素;均为阴性的菌株有 1 株,占比为 1.85%,耐受 11 种抗生素;在染色体 DNA 中为阴性而在质粒 DNA 中为阳性的菌株有 1 株,占比为 1.85%,耐受 19 种抗生素。由此可见,猪源 ExPEC I 类整合子的携带与多重耐药性之间关系较为密切。

2.6 猪源 ExPEC 不同抗生素耐药菌株整合子检测情况

54 株猪源 ExPEC 对 22 种抗生素耐药情况从高到低依次为 PEN (54 株)、AMX (54 株)、AMP (54 株)、FFC (54 株)、TMP (54 株)、SXT (54 株)、CFZ (52 株)、TE (52 株)、CA (49 株)、SPT (46 株)、STR (44 株)、RAN (43 株)、GEN (37 株)、CT (36 株)、DOX (35 株)、CRO (34 株)、CIP (30 株)、NEO (29 株)、ENR (25 株)、OFL (19 株)、AMK (17 株)和 PB (15 株)。这些对不同抗生素耐药的菌株整合子在染色体 DNA 中阳性率均为 96.30%,阴性率均为 3.70%;在质粒 DNA 中阳性率均为 98.15%,阴性率均为 1.85%。

3 讨论与结论

随着规模化养猪业的快速发展,由 ExPEC 引起的猪大肠杆菌感染呈现逐年升高的趋势。目前针对猪源 ExPEC 感染的研究较少,临床无疫苗出现,均依靠抗生素为主要治疗措施,但长期不合理使用抗生素导致细菌为了生存通过各种机制与药物对抗,从而产生耐药性,耐药谱越来

越广,对猪群的健康威胁也越来越严重。张青娴等^[10]报道河南地区猪源 ExPEC 分离株在受试的 18 种抗生素中至少耐受 7 种,而且对 GEN 和 RAN 的耐药率为 100%。许腾林等^[11]报道黑龙江地区猪源 ExPEC 分离株均为多重耐药,对 PEN 100%耐药,耐受 11 种以上药物的菌株占比为 83.02%。张璇等^[12]报道在 315 株猪源 ExPEC 分离株中,耐受 5 种以上药物的菌株占比为 95.2%,对 PEN 100%耐药,耐药谱达 46 种。本试验采用微量肉汤稀释法测定了 5 个地区 54 株猪源 ExPEC 对 22 种抗生素的感受性,结果显示对 PEN、AMX、AMP、FFC、SXT、TMP 100%耐药,对 TE、CA、RAN、STR、SPT 和 CFZ 耐药率均在 80%以上,对其余多种药物也存在一定抗性,所有菌株均能耐受 11 种以上药物,耐药谱为 47 种。结果表明 5 个地区所分离的猪源 ExPEC 分离株均具有多重耐药性,耐药谱复杂多样,由于抗生素的选择压力而呈现出对药物的感受性差异。因此,在养殖生产中,实时检测与监测猪源 ExPEC 的耐药情况,根据药敏试验确定防治药物意义显著。

耐药基因转移是临床上细菌耐药性传播最常见的机制,可以在同种或不同种细菌的质粒 DNA 或染色体 DNA 上进行传递和转移,造成耐药菌或多重耐药菌的广泛流行,给临床的治疗及防治带来严重威胁。李宇涵^[13]报道四川地区藏猪源 *E. coli* 分离株在染色体 DNA 中以 *qnrS* 和 *floR* 基因检出率最高,其中 70%以上菌株携带 3 种以上耐药基因。冯世文等^[14]报道广西地区猪源 *E. coli* 分离株在质粒 DNA 中以 *TEM* 和 *qnrA* 基因检出率最高,所有菌株均携带 2 种以上耐药基因。王利勤^[15]报道鸡源 *E. coli* 耐药基因 *tetA*、*tetB*、*TEM* 和 *aac-II* 的检出与菌株耐药表型呈极显著相关性($P<0.01$)。吴立婷^[8]报道宠物源 *E. coli* 耐药基因 *floR*、*CTX-M*、*SHV*、*qnrB* 和

qnrC 的检出与耐药表型相关性不显著($P>0.05$)。本试验根据药敏试验选取 7 类 20 种耐药基因,采用 PCR 方法分别检测 54 株猪源 ExPEC 染色体 DNA 和质粒 DNA 中耐药基因的分布,结果显示染色体 DNA 中以 *aadA1* 和 *tetA* 检出率最高,质粒 DNA 以 *floR* 检出率最高,所有菌株均携带 5 种以上耐药基因。耐药表型与耐药基因相关性分析结果显示,除 *tetA*、*tetC*、*tetM*、*TEM*、*CTX-M*、*sul1*、*sul2*、*qnrC*、*parC*、*aadA1*、*aadB* 和 *floR* 基因的检出与菌株的耐药表型呈极显著相关性($P<0.01$)外,其他耐药基因与菌株耐药表型的相关性不显著($P>0.05$)。以上结果表明不同地区的 ExPEC 分离株均携带多重耐药基因,耐药性的产生与耐药基因的存在密切相关,但并不完全一致,也就是说有些菌株虽表现出耐药表型但未检测到相关耐药基因,或携带耐药基因但并未表现出相应耐药表型,这或许与药物的多种耐药机制有关,或由于某些因素导致耐药基因不能成功表达从而发挥耐药功能,但这些细菌可能具有潜在耐药性^[16-17]。因此,及时了解猪源 ExPEC 耐药基因分布及流行情况,对耐药表型和耐药基因进行相关性分析,对于临床科学用药及药物使用策略具有重要的参考意义。

I 类整合子作为细菌 DNA 上的一部分片段,其本身是固定不变的,但它可整合多种耐药基因在质粒或染色体上,之后随着细菌的不断增殖,子代 DNA 不断产生,造成耐药基因的不断传递与传播,导致细菌出现严重耐药性。李成忠等^[18]报道猪源 *E. coli* I 类整合子阳性检出率为 66.67%,并且阳性菌株均具有多重耐药性,耐受 9 种以上抗生素。Shaheen 等^[19]报道宠物源 *E. coli* I 类整合子阳性菌株均对 2 类以上抗生素耐药,而且携带 I 类整合子的质粒 DNA 一旦丢失,则细菌耐药性便消失。本试验中 I 类整合子的阳性检出率极高,在染色体 DNA 上为 96.3%,

在质粒 DNA 上为 98.15%,并且检出 I 类整合子的阳性菌株均具有多重耐药性,均耐受 11 种以上的抗菌药物。说明猪源 ExPEC I 类整合子的携带情况与其多重耐药性有密切关系,而且 I 类整合子的检出率升高可能与猪源 ExPEC 耐药性增强和耐药谱广泛存在有关。其中部分菌株未检测到 I 类整合酶基因,这可能是由于介导多重耐药的其他遗传元件位于整合子外的染色体 DNA 和质粒 DNA 上,或存在其他耐药机制,如主动外排、外膜蛋白丢失等^[20-21],表明多重耐药菌株还存在其他耐药机制与整合子共同作用决定其耐药表型, I 类整合子的存在对 ExPEC 耐药基因的传播及多重耐药性的产生方面发挥重要作用^[22-23],因此,检测猪源 ExPEC 中 I 类整合子的分布,对于临床合理应用抗生素控制 ExPEC 病/感染具有重要意义。

54 株猪源 ExPEC 均具有多重耐药性,耐药谱复杂多样。20 个耐药基因在染色体 DNA 的携带率为 95%,以氨基糖苷类和四环素类耐药基因 *aadA1* 和 *tetA* 为主;质粒 DNA 携带率为 80%,以氟苯尼考类和喹诺酮类耐药基因 *floR* 和 *parC* 为主,表明耐药性的产生与耐药基因的存在具有一定相关性,而且菌株均携带多重耐药基因。I 类整合子在染色体 DNA 和质粒 DNA 中的阳性率分别为 96.30%和 98.15%,菌株多重耐药性与 I 类整合子的存在与否关系密切,而 I 类整合子的存在又增加了耐药基因水平转移的风险。

REFERENCES

- [1] 马增军, 芮萍, 逯春香, 杨彩然, 刘谢荣, 王秋悦, 刘曜综, 张建文. 猪源肠外致病性大肠杆菌的分离与鉴定[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 31(2): 130-134
Ma ZJ, Rui P, Lu CX, Yang CR, Liu XR, Wang QY, Liu YZ, Zhang JW. Isolation and identification of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from swine[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2015, 31(2): 130-134 (in Chinese)

- [2] 杨青. 山东省貂源大肠杆菌分离鉴定及相关生物学特性研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2016
Yang Q. Isolation, identification of *Escherichia coli* from mink and related research of some biological characteristics from Shandong Province[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [3] 郭强强, 孔静雅, 柴迎锦, 黄新, 韩猛立, 张星星, 吴桐忠, 周霞, 钟发刚. 绵羊肺源性致病性大肠杆菌的分离与鉴定[J]. 微生物学通报, 2017, 44(12): 2805-2811
Guo QQ, Kong JY, Chai YJ, Huang X, Han ML, Zhang XX, Wu TZ, Zhou X, Zhong FG. Isolation and identification of pathogenic *Escherichia coli* from sheep lung[J]. Microbiology China, 2017, 44(12): 2805-2811 (in Chinese)
- [4] 李超, 王宇婷, 倪宏波. 猪流行性腹泻病毒和大肠杆菌混合感染的诊断[J]. 现代畜牧兽医, 2016(12): 44-47
Li C, Wang YT, Ni HB. Porcine epidemic diarrhea virus and *E. coli* infection in laboratory diagnosis and susceptibility testing[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2016(12): 44-47 (in Chinese)
- [5] Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons[J]. Molecular Microbiology, 1989, 3(12): 1669-1683
- [6] 王群, 向瑶, 赵茂吉, 杨朝国. 8 种快速制备细菌基因组 DNA 方法的效果评价[J]. 现代预防医学, 2017, 44(16): 3005-3009
Wang Q, Xiang Y, Zhao MJ, Yang CG. Evaluation on the effect of 8 methods for rapid preparation of bacterial genomic DNA[J]. Modern Preventive Medicine, 2017, 44(16): 3005-3009 (in Chinese)
- [7] Zhong CY, Cheng AC, Wang MS, Zhu DK, Luo QH, Chen S, Zhang SH, Chen XY. Quantitative real-time PCR study of the expression and regulation of the tetracycline resistance gene in *Riemerella anatipestifer*[J]. Poultry Science, 2013, 92(6): 1552-1559
- [8] 吴立婷. 扬州地区宠物源大肠杆菌耐药性分析及耐药基因检测[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2017
Wu LT. Detection and analysis of drug resistance genes among *Escherichia coli* isolated from companion animals in Yangzhou area[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2017 (in Chinese)
- [9] 陆光武. 鸡、猪、奶牛源大肠杆菌的耐药性与其 I 类整合子和质粒相关性研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2016
Lu GW. Study on the antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens, pigs, cows and its correlation with class 1 integron and plasmids[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2016 (in Chinese)
- [10] 张青娟, 徐引弟, 王治方, 朱文豪, 焦文强, 李海利, 方剑玉, 郎利敏, 张立宪, 游一, 等. 猪源肠外大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2017(6): 6-9
Zhang QX, Xu YD, Wang ZF, Zhu WH, Jiao WQ, Li HL, Fang JY, Lang LM, Zhang LX, You Y, et al. Isolation and identification and resistance analysis of pig-derived *E. coli*[J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017(6): 6-9 (in Chinese)
- [11] 许腾林, 邢桂玲, 姜成刚, 刘家森, 刘大飞, 姜骞, 李志杰, 康洪涛, 郭东春, 曲连东. 猪、鸡与貂源肠外致病性大肠杆菌群型、耐药性与致病性分析[J]. 中国预防兽医学报, 2018, 40(5): 386-391
Xu TL, Xing GL, Jiang CG, Liu JS, Liu DF, Jiang Q, Li ZJ, Kang HT, Guo DC, Qu LD. Phylogenetic group, antimicrobial resistance and pathogenic analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from swine, chicken and mink[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2018, 40(5): 386-391 (in Chinese)
- [12] 张璇, 汤细彪, 吴斌, 陈石, 夏欣, 满晓营, 陈焕春. 肠外致病性大肠埃希菌多重耐药性及氨基糖苷类耐药基因分析[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(8): 498-504
Zhang X, Tang XB, Wu B, Chen S, Xia X, Man XY, Chen HC. Analysis of multi-drug resistance and the resistance genes to aminoglycoside antibiotics of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2009, 34(8): 498-504 (in Chinese)
- [13] 李宇涵. 牦牛和藏猪源大肠杆菌生物被膜形成能力、耐药基因及毒力基因检测[D]. 成都: 西南民族大学硕士学位论文, 2020
Li YH. Detection of biofilm forming ability, drug resistance gene and virulence gene of *Escherichia coli* from yak and Tibetan Pig[D]. Chengdu: Master's Thesis of Southwest University for Nationalities, 2020 (in Chinese)
- [14] 冯世文, 李军, 李常挺, 许力士, 潘艳, 胡帅, 钟舒红, 贺会利. 广西规模化猪场猪源大肠杆菌耐药表型和耐药基因检测及相关性分析[J]. 中国兽医学报, 2020, 40(6): 1170-1178
Feng SW, Li J, Li CT, Xu LS, Pan Y, Hu S, Zhong SH, He HL. Detection and correlation analysis on the antibiotic resistance phenotype and resistance genes of

- swine *Escherichia coli* in Guangxi Province[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2020, 40(6): 1170-1178 (in Chinese)
- [15] 王利勤. 鸡源致病性大肠埃希菌耐药基因及毒力基因检测研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2012
- Wang LQ. Study on resistance genes and virulence genes of pathogenic *Escherichia coli* isolates from chickens[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2012 (in Chinese)
- [16] Yang F, Shen C, Zheng XB, Liu Y, El-Sayed Ahmed MAEG, Zhao ZH, Liao K, Shi YL, Guo X, Zhong RX, et al. Plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-I* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from market retail fruits in Guangzhou, China[J]. Infection and Drug Resistance, 2019, 12: 385-389
- [17] Cohen Stuart J, Dierikx C, Al Naiemi N, Karczmarek A, Van Hoek AHAM, Vos P, Fluit AC, Scharringa J, Duim B, Mevius D, et al. Rapid detection of TEM, SHV and CTX-M extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* using ligation-mediated amplification with microarray analysis[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010, 65(7): 1377-1381
- [18] 李成忠, 王红宁, 黄勇, 马孟根, 吴琦, 羊云飞, 谢涛, 柳萍. 多重耐药鸡致病性沙门氏菌 I 类整合子的检测研究[J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34(1): 119-123
- Li CZ, Wang HN, Huang Y, Ma MG, Wu Q, Yang YF, Xie T, Liu P. Study on detection I integron of multidrug resistance pathogenic *Salmonella* from chicken[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2007, 34(1): 119-123 (in Chinese)
- [19] Shaheen BW, Oyarzabal OA, Boothe DM. The role of class 1 and 2 integrons in mediating antimicrobial resistance among canine and feline clinical *E. coli* isolates from the US[J]. Veterinary Microbiology, 2010, 144(3/4): 363-370
- [20] 张发苏, 李涛, 徐元宏, 沈继龙. 大肠埃希菌 I 类整合子携带率及可转移耐药率研究[J]. 临床输血与检验, 2006, 8(3): 164-166
- Zhang FS, Li T, Xu YH, Shen JL. Class I integron carrying rates and transferable resistance rates of *Escherichia coli*[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2006, 8(3): 164-166 (in Chinese)
- [21] 苏健裕, 石磊, 杨连生. 临床大肠埃希菌第 I 类整合子检测及耐药基因盒分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(7): 385-387
- Su JY, Shi L, Yang LS. Identification and characterization of class 1 integron-mediated antibiotic resistance among *Escherichia coli* clinical strains[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2008, 5(7): 385-387 (in Chinese)
- [22] Marei Y, Hamady A. The relation between class I integrons and multidrug-resistance in extended-spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* isolates[J]. Microbes and Infectious Diseases, 2020, 1(3): 190-198
- [23] Ibrahim ME, Magzoub MA, Bilal NE, Hamid ME. Distribution of class I integrons and their effect on the prevalence of multi-drug resistant *Escherichia coli* clinical isolates from Sudan[J]. Saudi Medical Journal, 2013, 34(3): 240-247